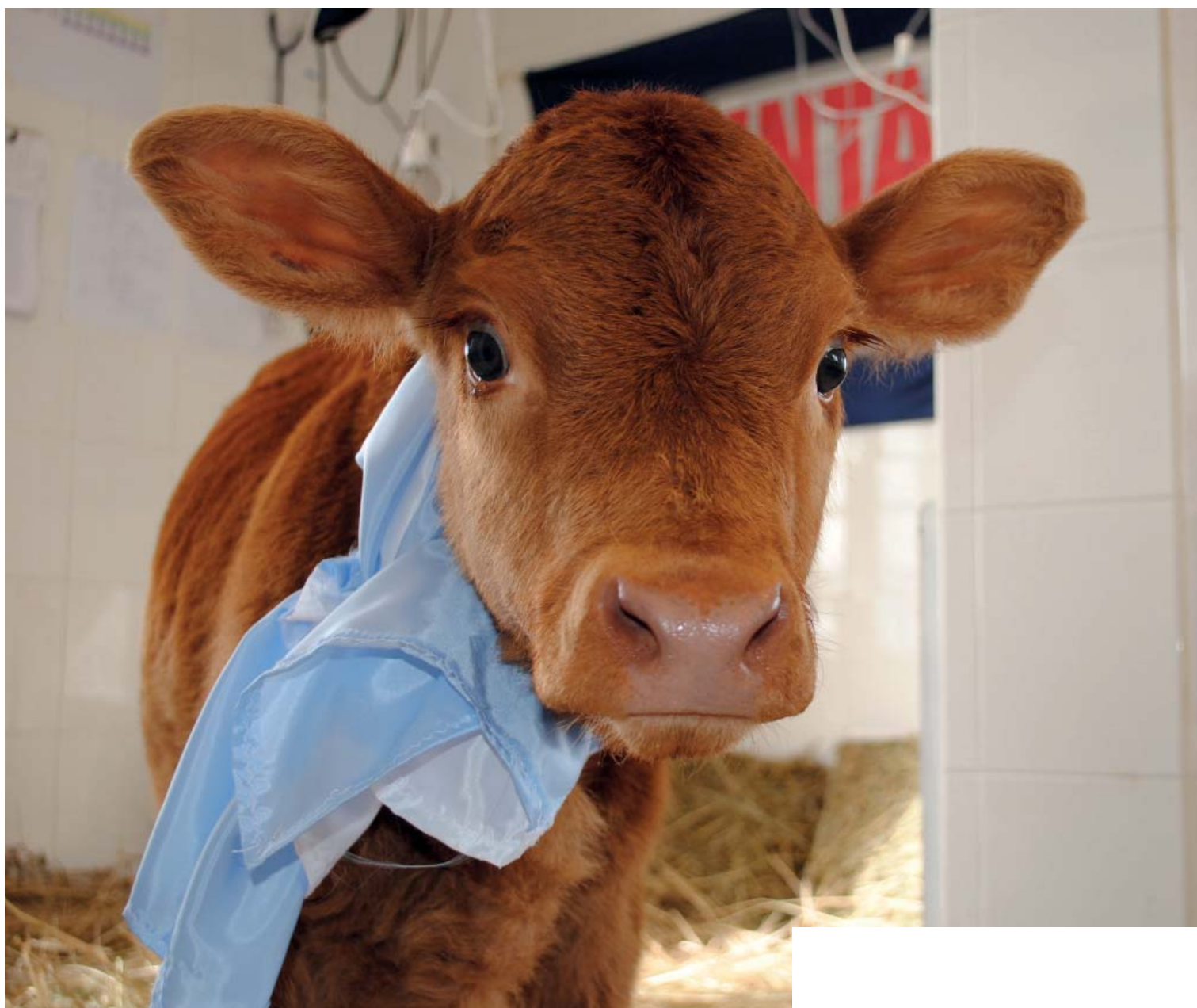


POR EXPRESIÓN BICISTRÓNICA

# El primer bovino bitransgénico del mundo

Por primera vez en la historia, científicos logran insertar dos genes humanos en un sólo sitio del genoma bovino. Se trata de investigadores argentinos pertenecientes al INTA y a la UNSAM quienes desarrollaron esta tecnología que permitiría generar “animales clave”.

Por Felicitas Terreno



## NACE EL PROYECTO

Lograr un bovino doble transgénico no fue fácil. La idea nació de Adrián Mutto, quien ideó un proyecto para su doctorado que consistía en la obtención de cabras transgénicas que produjeran lisozima y lactoferrina.

Antes de iniciarlo, acudió al INTA, institución cuya sede ubicada en la localidad bonaerense de Balcarce realiza, desde la década del 90, investigaciones relacionadas con clonación y transgénesis.

De hecho, fue allí donde se produjeron los primeros clones bovinos del país por partición embrionaria mecánica, aunque luego incorporó tecnología más reciente como la transferencia nuclear que tiene gran relevancia para multiplicar animales de interés productivo o generar especies modificadas de interés farmacéutico.

En el INTA Balcarce se obtuvo la primera gestación latinoamericana de un ternero clonado en 2001 (aunque la vaca gestante murió una semana antes del parto).

*“No podemos generar rodeos de vacas que produzcan leche ‘maternizada’ por los costos que conlleva; pero lo que sí podemos hacer mediante esta técnica es generar ‘animales clave’ que transmitan esta posibilidad a su descendencia”*

Investigadores argentinos presentaron el **primer bovino transgénico del mundo** al que se le han incorporado dos genes humanos que codifican proteínas presentes en la leche humana.

Así, **Rosita ISA** podría constituirse como una herramienta clave en la existencia de animales productores de alimentos nutricionalmente útiles para el hombre a través de su descendencia. Esto se debe a que los genes de interés están incorporados en el genoma del bovino.

Germán Kaiser y Nicolás Mucci, investigadores del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Adrián Mutto, de la Universidad Nacional de San Martín (UNSAM), generaron a este bovino a partir de un proyecto que comenzó en el 2005 en cabras que comprendía la **obtención de un animal doble transgénico** que expresara las proteínas lisozima y lac-

toferrina en la glándula mamaria (ver recuadro **“Nace el proyecto”**).

Ambas proteínas, “tienen una importancia significativa porque poseen funciones antifúngicas, antibacteriales y antivirales, entre otras, lo que genera un gran **impacto en la vida temprana de los infantes**”, explica Mucci.

Por su parte, Mutto señala que la captura de iones de hierro que facilita la lactoferrina “tiene una **eficiencia cercana a mil veces superior** si se lo compara con la toma oral de sulfato ferroso”, mientras que la función antibacteriana de la lisozima protege al neonato de posibles infecciones, por lo que “esta leche tendría un **valor protector** muy elevado con respecto a la leche de vaca sin modificar”.

A su vez, Kaiser, agrega que “cuando se consume la leche de vaca, las proteínas presentes naturalmente sólo son una fuente de aminoácidos. Para que éstas cumplan una función tienen que ser de **origen humano**, de ahí, la necesidad de incorporarlas a la ternera clonada” (Ver recuadro **“Las proteínas”**).

Según acordaron los tres profesionales, lo novedoso de esta investigación es que **ambas proteínas se expresan**

**en un mismo animal** bajo un mismo promotor ya que existen investigaciones anteriores en las que bovinos producían lactoferrina o lisozima, pero nunca las dos al mismo tiempo.

### TRANSGÉNESIS Y CLONACIÓN

A pesar de haber modificado el sujeto de estudio (las cabras resultaron poco convenientes debido a que no se disponía de sus ovarios en la zona, por lo que decidieron concentrarse en los bovinos), los tres científicos continuaron sus investigaciones para la produc-

**ÉSTA TECNOLOGÍA PUEDE  
GENERAR “ANIMALES CLAVE”  
QUE TRANSMITAN  
A SU DESCENDENCIA  
SU INFORMACIÓN GENÉTICA  
Y LA CAPACIDAD DE PRODUCIR  
ALIMENTOS NUTRICIONES  
BENEFICIOSOS  
PARA EL HUMANO.**

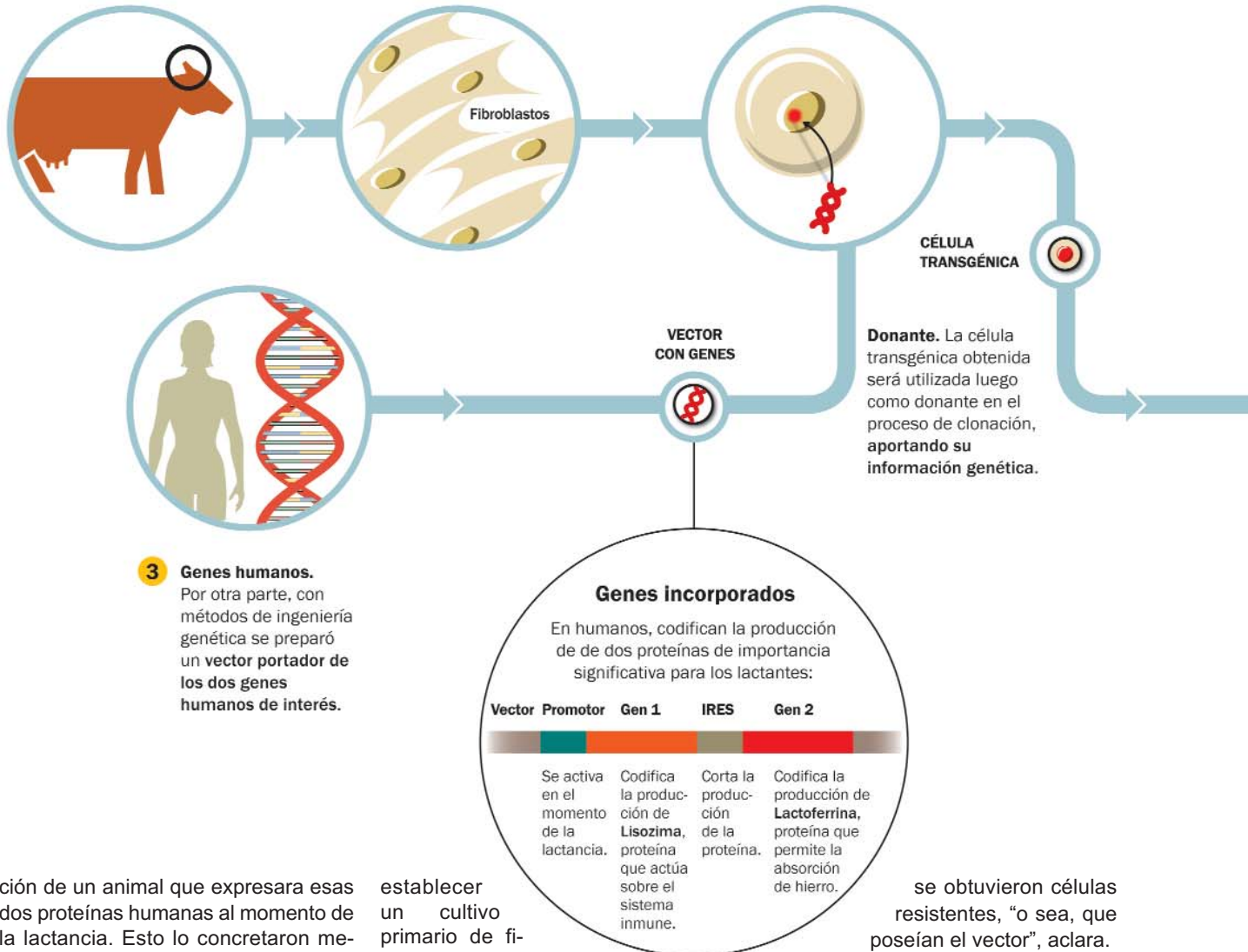
# La producción de la ternera doble transgénica, paso a paso

## Generación de una célula transgénica

**1 Muestra.** Se seleccionó una vaca Jersey como espécimen a clonar (fundadora). Se tomó una muestra de piel del pabellón auricular.

**2 Cultivo.** La muestra de piel se procesó en laboratorio y se estableció un cultivo primario de células llamadas fibroblastos.

**4 Transgénesis.** El cultivo de fibroblastos fue transfectado con el vector. El material genético fue "arrastrado" hacia el núcleo de las células.



ción de un animal que expresara esas dos proteínas humanas al momento de la lactancia. Esto lo concretaron mediante **tres procesos**: la obtención de la línea celular transgénica (transgénesis), su utilización para constituir un embrión que sea transferible a una vaca adulta (clonación), y el parto y cuidado de la ternera durante sus primeros meses de vida (neonatología de animales de alto riesgo).

Mutto explica que al comienzo "se tomó una muestra de tejido del pabellón auricular de una vaca Jersey para

establecer un cultivo primario de fibroblastos con el tejido. Tomando como 'esqueleto' el vector comercial pIRES2-EGFP, se insertó el promotor de la beta-caseína y los ADN copia de la lactoferrina y lisozima humanas".

Luego, el material genético de ese nuevo vector (ahora identificado como "pIRES-hLf-hLs/Neo") fue introducido a los fibroblastos por lipofección y, tras un tiempo de cultivo y selección celular,

se obtuvieron células resistentes, "o sea, que poseían el vector", aclara.

Estas células transgénicas fueron incorporadas, mediante **transferencia nuclear o clonación**, a un ovocito madurado *in vitro* cuyo núcleo anterior fue extraído por micromanipulación. Una vez dentro, el contenido de ese ovocito modificado se transformó en un núcleo embrionario que luego se transfirió a una vaca que quedó preñada, explica Kaiser.



Se obtuvo el primer bovino capaz de desarrollar, a través de su leche, dos proteínas de interés nutricional para los infantes humanos.

**Clonación por transferencia nuclear**

**5 Ovocito.** Se obtuvieron ovocitos de vacas faenadas y fueron madurados *in vitro* en estufa de cultivo.

**6 Enucleación.** Mediante micromanipulación se extrajo el núcleo del ovocito, eliminando de este modo toda su información genética.

**7 Transferencia nuclear.** Se incorporó al ovocito una célula transgénica y se fusionaron con un pulso eléctrico. El núcleo del ovocito se transformó en núcleo embrionario y se generó un embrión.

**Transferencia del embrión y gestación**

**8 Vientre.** Luego de siete días en cultivo, el embrión fue transferido a una vaca receptora, sincronizada con la edad del embrión, para continuar su gestación.

**Nacimiento y control**

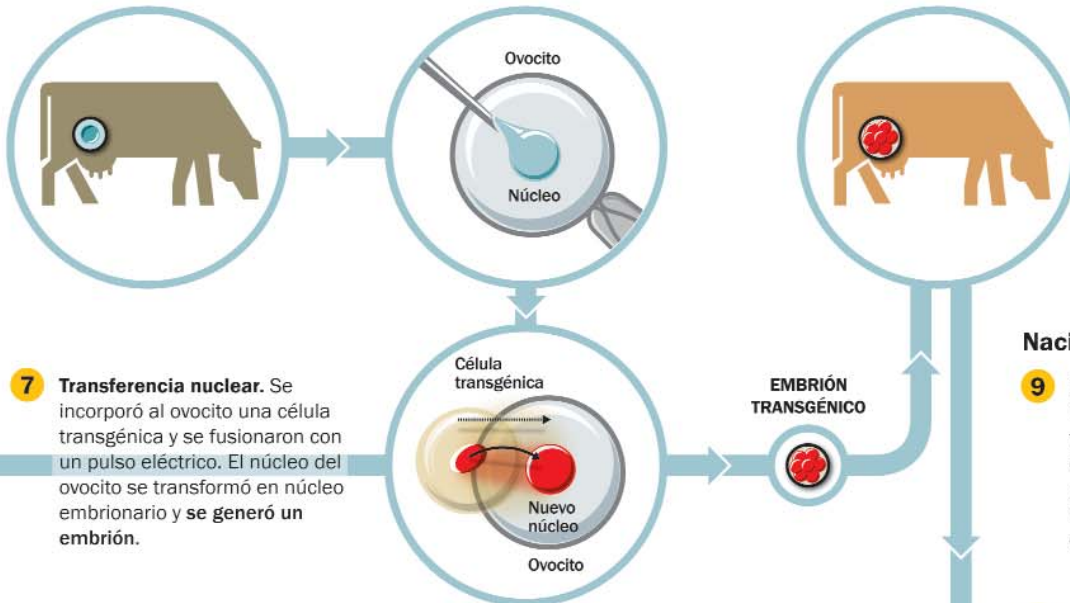
**9 Rosita ISA.** Nueve meses después nació la ternera en un parto por cesárea. Durante sus primeros meses de vida recibió asistencia y cuidados especiales.

**10 Verificación.** A Rosita ISA le realizaron análisis que certifican el éxito de la transgénesis y la clonación. **Porta en su genoma los dos genes humanos de interés.**

**Funcionalidad.** Todo indica que, al madurar, Rosita ISA debería **producir naturalmente leche con las proteínas Lisozima y Lactoferrina humanas.**

**Reproducción**

Por la forma en que se realizó la transgénesis los dos genes humanos fueron incorporados al genoma de Rosita. Esto indica que **su descendencia podría heredar esos dos genes.**



**Rosita ISA adulta**

**Hija natural de Rosita ISA**

“CON ESTE PROYECTO TAMBIÉN BUSCAMOS UN FIN RELACIONADO CON LA CALIDAD DE VIDA DE LOS BEBES QUE NO PUEDEN TENER ACCESO A LA LECHE MATERNA, PERO NO SABEMOS SI SE CONCRETARÁ. ESO NOS EXCEDE COMPLETAMENTE” (NICOLÁS MUCCI, ADRIÁN MUTTO Y GERMÁN KAISER)



Puede sonar simple, pero no lo es: sólo el 15 por ciento de esas células llegaron al final del proceso; **sólo sobrevivieron 15 embriones para transferir**, con los que quedaron preñadas dos vacas (una con un ternero que sufrió muerte fetal, y la otra con Rosita ISA en su interior).

Según Mucci, “éste porcentaje bajo se debe a que estas líneas transgénicas están compuestas por células con mucha manipulación que van sufriendo y perdiendo eficacia a la hora de responder a la reprogramación nuclear luego de ser incorporadas al citoplasma del ovocito”.

La ingeniería genética utilizada para generar a la ternera, se encuentra actualmente en etapa de investigación, enmarcada en la resolución 240 del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, previa aprobación de la Comisión Nacional de Biotecnología Agropecuaria.

#### NUTRICIÓN INFANTIL

La investigación tuvo **dos finalidades**: la primera estuvo relacionada con

## LAS PROTEÍNAS

\* **Lactoferrina**: proteína biglobular de la familia de las transferrinas. Su función principal es la de capturar dos iones de hierro (Fe) +3 e ingresarlos al torrente sanguíneo. Según Mutto, tiene una eficiencia de mil veces superior si se la compara con la toma oral de sulfato ferroso. También posee otras cualidades como ser bactericida, antiviral, maduradora de las células del intestino y promotor de la odontogénesis, entre otras. A su vez, su actividad es especie específica, o sea que sólo la lactoferrina humana puede incorporar hierro en el intestino de los bebés, no así la propia de la vaca. De allí, la importancia de incorporar su gen codificante de origen humano.

\* **Lisozima**: es una enzima de bajo peso molecular cuya principal función es antibacteriana, lo que protege al neonato lactante de posibles infecciones originadas en la vía oral. En el humano se encuentra en altas concentraciones, aunque en el bovino es casi indetectable.

**LA LECHE DE ROSITA ISA  
TENDRÍA IMPORTANTES  
VENTAJAS DESDE EL PUNTO  
DE VISTA NUTRICIONAL  
Y FISIOLÓGICO, POR POSEER  
DOS PROTEÍNAS CLAVE PARA  
EL DESARROLLO DE LOS BEBÉS.**

la creación de un **procedimiento novedoso** que se constituyó en un avance internacional, mientras que la segunda fue igualmente importante puesto que se encuentra relacionada con la **mejora de los aspectos nutricionales** de los infantes humanos.

La leche que produzca la ternera durante su vida adulta **se asemejará a la leche humana**, lo que permitirá suplir ciertas falencias que posee la leche vacuna y podrá ser aprovechada por los niños que no tengan acceso a la leche materna, aunque los investigadores destacan que esta finalidad los "excede absolutamente" ya que desconocen la futura utilización concreta de esta tecnología que desarrollaron, debido fundamentalmente a que no existen marcos regulatorios sobre el consumo de alimentos de origen de animales genéticamente modificados.

Según Mucci, los componentes funcionales de la leche aprovechada por los lactantes deberían ser de **origen humano**, por eso la inclusión de estas proteínas contribuye a elevar su valor nutricional en comparación con la leche sin agregados nutricionales.

"Una proteína de vaca en el aparato digestivo de un bebé simplemente es una fuente de aminoácidos y no cumple una función específica ya que para ello debería ser de origen humano, por lo tanto, **no existe una base científica que indique que debería haber algún problema con la ingesta de la leche de ISA**", explica Kaiser.

**LA CLAVE DEL FUTURO**

Hoy, gracias a estos avances científicos, el ser humano se encuentra ante

la **posibilidad de comercializar alimentos transgénicos** que puedan ser beneficiosos para la nutrición y la salud humana. Si bien deberán pasar por estrictos controles sanitarios y medioambientales, el desarrollo de este tipo de animales puede llegar a ser trascendental para una **la población mundial** que en 2050 llegaría a los **9100 millones de personas**, según una estimación de la Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

No obstante, los tres investigadores consideraron que los avances científicos por sí mismos no serán suficientes para cambiar el destino alimentario de la Tierra. "Las herramientas biotecnológicas son sólo herramientas. No pensamos solucionar los problemas de alimentación con la leche de esta ternera ya que existe un **contexto socio-político que va más allá de la transgénesis y la clonación**", afirman.

Además, la creación de este tipo de animales es costosa y no necesariamente asegura los resultados previstos. De hecho, sólo el 15 por ciento de las células transgénicas lograron convertirse en embriones bovinos.

No obstante, sí se puede considerar que esta tecnología genere "**animales clave**" que tengan la posibilidad de transmitir a su descendencia su información genética y la capacidad de producir alimentos nutricionalmente beneficiosos para el humano.

"Debido a la forma en la que se efectuó la transgénesis, **las proteínas humanas insertas en el genoma bovino**", sólo se expresarán en las glándulas mamarias al momento de la lactancia, por lo cual "los hijos de Rosita ISA tienen un 25 por ciento de posibilidades de ser transgénicos como ella", señala Mucci, quien concluye que "esta experiencia no viene a cambiar el destino de la desnutrición infantil, quizás viene a aportar un grano de arena más".

**Más información:**

*Nicolás Mucci:*  
nmucci@balcarce.inta.gov.ar

*Adrián Mutto:*  
amutto@unsam.edu.ar

*German Kaiser:*  
reproduccion@balcarce.inta.gov.ar

**Nueva capacidad del sistema público de I+D**

La tecnología de transgénesis ha sido incorporada al sistema agropecuario de nuestro país desde hace **más de 15 años**, con una dinámica de adopción inédita por parte de productores y de consumidores, aportando beneficios objetivos que alcanzan a distintos sectores de nuestra sociedad. Asimismo, a lo largo de estos años, la utilización en el mundo de esta tecnología ha mostrado que el **consumo de sus productos es tan seguro** como el de aquellos obtenidos por metodologías más convencionales. Esta situación es derivada del conocimiento científico-tecnológico asociado a su producción así como de la aplicación de un estricto marco regulatorio. Cabe remarcar que, conceptualmente, la tecnología de transgénesis no hace sino replicar, en forma controlada y racional, un proceso equivalente presente en la naturaleza y responsable de la transferencia de genes de una especie a otra (dinámica de la que también participa el ser humano).

El desarrollo de la ternera transgénica Rosita ISA es un **nuevo ejemplo de las capacidades que el sistema público de investigación local puede adquirir** cuando se conjugan el conocimiento científico, el trabajo concertado de diferentes equipos de investigación, la infraestructura apropiada, el recurso financiero adecuado y el necesario planeamiento estratégico. Como todo desarrollo de avanzada, es merecedor de la atención local e internacional, lo que hace necesario tanto su comunicación de forma precisa como también una lectura que conjugue un análisis informado y una actitud abierta a considerar nuevas estrategias de intervención que sean funcionales a las necesidades de una sociedad.

Esta ternera se ha convertido en una exitosa prueba de concepto que **augura la factibilidad de efectuar un aporte a la salud pública** a través de la obtención, por vías como esta, de leches apropiadas para cubrir necesidades específicas de la nutrición infantil. Mientras tanto, la estudiada elección de las proteínas de interés, su producción acotada a la leche y la atención del animal por parte de un equipo multidisciplinario garantizan que el necesario bienestar de Rosita ISA y sus sucesores sea muy superior, por ejemplo, al de cualquier animal de producción convencional.

**Fernando Ardila**  
Recursos Genéticos, Mejoramiento  
y Biotecnología. INTA